

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif komparatif (studi perbandingan) yaitu merupakan bentuk penelitian deskriptif yang membandingkan dua atau lebih dari dua situasi, kejadian, kegiatan, program, dan lain-lain yang sejenis atau hampir sama. Hasil penelitian akan dianalisis untuk dapat ditemukan faktor-faktor dominan yang melatarbelakangi atau diakibatkan dari suatu situasi atau kejadian (Sukmadinata, 2007). Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan dan mengolah hasil data kandungan pewarna Methanil Yellow dan kandungan pemanis Sakarin pada berbagai produk jamu di kota Malang.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 22-29 Januari 2018 di Laboratorium Farmasi Universitas Airlangga untuk menganalisis kandungan pewarna Methanil Yellow dan pada tanggal 16 dan 20 Maret 2018 di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang untuk menganalisis kandungan pemanis Sakarin pada berbagai produk jamu di Kota Malang.

### **3.3 Populasi dan Sampel**

#### **3.3.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah berbagai produk jamu tradisional yang ada di Kota Malang yang terdiri dari jamu tidak berlabel dagang dan jamu berlabel dagang.

#### **3.3.2 Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah jamu tradisional dengan dua kategori yakni jamu tidak berlabel dan jamu berlabel dagang. Masing-masing kategori terdiri dari dua jamu kunyit asam, dua jamu kunyit luntas, dua jamu beras kencur dan dua jamu sinom yang beredar di kota Malang, dengan total keseluruhan sampel sebanyak 16 sampel. Jamu tradisional tidak berlabel dagang diambil di pasar-pasar besar yang terdapat di lima kecamatan di kota Malang diantaranya yaitu Kecamatan Klojen (Pasar Besar Kota Malang dan Pasar Klojen), Kecamatan Blimbing (Pasar Blimbing dan Pasar Pandanwangi), Kecamatan Lowokwaru (Pasar Dinoyo dan Pasar Tawangmangu), Kecamatan Gadang (Pasar Induk Gadang) dan Kecamatan Sukun (Pasar Kasin). Masing-masing jamu tidak berlabel dagang diambil di setiap pedagang jamu yang berbeda. Sampel jamu diambil dari pedagang jamu yang dijajakan keliling dengan menggunakan sepeda, gerobak maupun digendong.

Sedangkan jamu tradisional berlabel dagang diambil di toko dan tempat produksinya langsung di kota Malang, diantaranya yaitu Jamu Kunyit Asam (label dagang Jamune #24 dan Jamu Kusapa), Jamu Kunyit Luntas (Jamumu Id dan Jamu Gle-gek), Jamu Beras Kencur (Jamu Lipursarie dan Jamu Mbak Iti), dan Jamu Sinom (Sinome Nyoto dan Sinom Sariati).

**Rumus untuk menentukan jumlah pengulangan menurut Frederer (1967):**

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(16-1)(r-1) \geq 15$$

$$15(r-1) \geq 15$$

$$15r - 15 \geq 15$$

$$15r \geq 15 + 15$$

$$r \geq 30/15 = 2 \text{ kali pengulangan}$$

**Keterangan :**

r : Replikasi

t : Treatmen (perlakuan)

n : Jumlah sampel (perlakuan)

**Jumlah sampel**

$$n = t.r$$

$$= 16.2 = 32 \text{ sampel}$$

**Tabel 3.1 Kode sampel**

Kategori sampel	Tempat pengambilan/ label dagang sampel	Jenis jamu tradisional	Kode sampel	Ulangan	
				1	2
Jamu tidak berlabel dagang	Pasar Besar	Jamu Kunyit Asam	A1	A11	A12
	Pasar Induk Gadang	Jamu Kunyit Asam	B1	B11	B12
	Pasar Blimbing	Jamu Kunyit Luntas	C1	C11	C12
	Pasar Tawangmangu	Jamu Kunyit Luntas	D1	D11	D12
	Pasar Pandanwangi	Jamu Beras Kencur	E1	E11	E12
	Pasar Dinoyo	Jamu Beras Kencur	F1	F11	F12
	Pasar Klojen	Jamu Sinom	G1	G11	G12
	Pasar Kasin	Jamu Sinom	H1	H11	H12
Jamu berlabel dagang	Jamune #24	Jamu Kunyit Asam	A2	A21	A22
	Jamu Kusapa	Jamu Kunyit Asam	B2	B21	B22
	Jamumu id	Jamu Kunyit Luntas	C2	C21	C22
	Jamu Gle-gek	Jamu Kunyit Luntas	D2	D21	D22
	Jamu Lipursarie	Jamu Beras Kencur	E2	E21	E22
	Jamu Mbak Iti	Jamu Beras Kencur	F2	F21	F22
	Jamu Sinome Nyoto	Jamu Sinom	G2	G21	G22
	Jamu Sinom Sariati	Jamu Sinom	H2	H21	H22

(Sumber: Data pribadi, 2018)

### 3.3.3 Teknik Sampling

Adapun teknik sampling yang digunakan adalah *simple random sampling* yaitu teknik penentuan sampel yang diambil secara acak tanpa memperhatikan

strata yang ada dalam populasi itu (Sugiyono, 2016). setiap satuan sampling yang ada dalam populasi memiliki peluang yang sama tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi untuk dipilih kedalam sampel (Susanti, 2016).

### **3.4 Jenis dan Definisi Operasional Variabel**

#### **3.4.1 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut lalu ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2016). Variabel pada penelitian ini yaitu berbagai produk jamu, pewarna Methanil Yellow dan pemanis Sakarin.

#### **3.4.2 Definisi Operasional Variabel**

Agar tidak terjadi kesalahan makna pada tiap variabel maka perlu didefinisikan tiap variabel yang digunakan dalam penelitian ini. Adapun operasional variabel tersebut, yaitu:

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan suatu metode yang bertujuan untuk memisahkan senyawa dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca (Mukaromah, 2008). Metode ini digunakan untuk memisahkan senyawa pewarna Methanil Yellow pada sampel jamu.
2. Spektrofotometri adalah metode yang digunakan untuk menganalisa unsur-unsur berkadar rendah secara kuantitatif maupun secara kualitatif (Noviarty, 2013). Metode ini digunakan untuk mengidentifikasi serta mengukur kadar kandungan pemanis Sakarin pada jamu.

### 3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahap pengambilan sampel jamu tidak berlabel dan jamu berlabel dagang. Kemudian melakukan uji laboratorium dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis untuk mengetahui kandungan zat pewarna Methanil Yellow dan uji dengan menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui kandungan pemanis Sakarin.

#### 3.5.1 Uji Pewarna Methanil Yellow

##### 3.5.1.1 Persiapan Penelitian

Tahap ini dilakukan untuk mempersiapkan kebutuhan yang akan digunakan dalam penelitian meliputi alat dan bahan.

#### 1. Alat dan Bahan

##### a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian uji pewarna Methanil Yellow tersaji pada tabel 3.2 berikut:

**Tabel 3.2 Alat uji pewarna Methanil Yellow**

No	Alat	No	Alat
1.	Tabung reaksi	11.	Pipet tetes
2.	Rak tabung reaksi	12.	Botol flakon
3.	Timbangan analitik	13.	Rak botol flakon
4.	Kertas label	14.	Pipa kapiler
5.	Gelas ukur	15.	Plat kromatografi
6.	Corong kaca	16.	Nanomat
7.	Erlenmeyer	17.	Bejana kromatografi
8.	Vortex	18.	Hair dryer
9.	Ultrasonik	19.	TLC Scanner
10.	Beaker Glass		

(Sumber: Data pribadi, 2018)

##### b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian uji pewarna Methanil Yellow tersaji pada tabel 3.3 berikut:

**Tabel 3.3 Bahan uji pewarna Methanil Yellow**

No	Bahan	No	Bahan
1.	Delapan sampel jamu tidak berlabel dagang yang telah ditentukan	5.	Plastik
2.	Delapan Jamu berlabel dagang yang telah ditentukan	6.	Etil Asetat 15 ml
3.	Tisu	7.	Metanol 3 ml
4.	Aquades	8.	NH <sub>3</sub> 30% 3 ml

(Sumber: Data pribadi, 2018)

### 3.5.1.2 Pelaksanaan Penelitian

#### 1. Analisis Kandungan Kadar Pewarna Methanil Yellow

##### a. Pembuatan larutan standart

- 1) Timbang 100 mg Methanil Yellow standart dilarutkan dalam 100 ml etanol.

##### b. Preparasi bahan

- 1) Ukur 10 ml sampel jamu
- 2) Masukkan kedalam tabung reaksi
- 3) Ukur 10 ml metanol dan masukkan kedalam masing-masing tabung reaksi yang sudah berisi sampel jamu
- 4) Vortex masing-masing sampel hingga homogen
- 5) Ultrasonik semua sampel dengan menggunakan alat ultrasonik selama 15 menit
- 6) Angkat sampel dari alat ultrasonik
- 7) Masukkan cairan sampel kedalam botol flakon dengan menggunakan pipet tetes
- 8) Ambil cairan sampel dengan menggunakan pipa kapiler
- 9) Letakkan pipa kaliper pada nanomat

- 10) Totolkan sampel serta larutan standart pada plat kromatografi hingga pekat (nyalakan hair dryer dekat dengan nanomat agar totolan cairan cepat mengering)

c. Persiapan Elusi

- 1) Siapkan cairan eluen Etil Asetat: Metanol:  $\text{NH}_3$  30% dengan perbandingan 15: 3: 3
- 2) Masukkan cairan eluen kedalam bejana kromatografi tutup
- 3) Masukkan plat kromatografi sampel jamu hingga jarak antara bagian atas plat dengan cairan eluen  $\pm 1$  cm

d. Persiapan Scanning

- 1) Hidupkan TLC Scanner
- 2) Letakkan plat kromatografi kedalam TLC Scanner
- 3) Atur letak plat kromatografi agar berada pada posisi yang sesuai
- 4) Lakukan proses scanning dan grafik spektrum akan terlihat pada layar komputer
- 5) Bandingkan Rf bercak sampel dengan Rf bercak standart

### 3.5.2 Uji Pemanis Sakarin

#### 3.5.2.1 Persiapan Penelitian

Tahap ini dilakukan untuk mempersiapkan kebutuhan yang akan digunakan dalam penelitian meliputi alat dan bahan.

## 1. Alat dan Bahan

### a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian uji pemanis Sakarin tersaji pada tabel

3.4 berikut:

**Tabel 3.4 Alat uji pemanis Sakarin**

No	Alat	No	Alat
1.	Timbangan analitik	7.	Hot plate
2.	Erlenmeyer	8.	Labu takar
3.	Tabung reaksi	9.	Tabung kuvet
4.	Rak tabung reaksi	10.	Spektrofotometer
5.	Gelas ukur	11.	Vortex
6.	Pipet tetes		

(Sumber: Data pribadi, 2018)

### b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian uji pemanis Sakarin tersaji pada tabel

3.5 berikut:

**Tabel 3.5 Bahan uji pemanis Sakarin**

No	Bahan	No	Bahan
1.	Delapan sampel jamu tidak berlabel dagang yang telah ditentukan	5.	Aquades
2.	Delapan Jamu berlabel dagang yang telah ditentukan	6.	Resorsinol
3.	Tisu	7.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
4.	Sakarin standart	8.	NaOH

(Sumber: Data pribadi, 2018)

### 3.5.2.2 Pelaksanaan Penelitian

#### 1. Penyiapan Larutan Standart

- Timbang 100 mg Sakarin standart, lakukan dalam 100 ml aquades
- Buat larutan Sakarin standart dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 100% dengan cara mengencerkan dari larutan 100 mg/100 ml



- c. Ambil 2 ml dari larutan standart, tambahkan dengan 50 mg resorsinol yang telah dilarutkan dalam pemanas air yang sudah mendidih ( $100^{\circ}\text{C}$ ) selama  $\pm 3$  menit, dinginkan
- d. Masukkan masing-masing larutan ke dalam labu takar 25 ml dan menambahkan 10 ml NaOH 1 N, kemudian tambahkan aquades hingga tanda batas
- e. Pindahkan larutan dalam tabung kuvet, kemudian amati absorbansinya pada  $\lambda 445$  nm dengan spektrofotometer
- f. Buat persamaan regresi yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi

## 2. Pembuatan larutan standart

- a. Preparasi sampel cair dilakukan dengan mengambil 10 ml sampel dan dimasukkan kedalam tabung reaksi
- b. Tambahkan dengan 50 mg resorsinol yang telah dilarutkan dalam 1 ml aquades, 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dan 5 ml aquades. Kemudian panaskan dalam pemanas air yang sudah mendidih ( $100^{\circ}\text{C}$ ) selama  $\pm 3$  menit, dinginkan
- c. Pindahkan larutan kedalam labu takar 25ml dan tambahkan dengan 10 ml NaOH 1 N, tambahkan aquades hingga tanda batas
- d. Pindahkan larutan dalam tabung kuvet, kemudian amati absorbansinya pada  $\lambda 445$  nm dengan spektrofotometer.

### 3.6 Metode Pengumpulan Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini melalui uji laboratorium yaitu data kualitatif Methanil Yellow pada berbagai produk jamu dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan data kuantitatif pemanis Sakarin pada berbagai produk jamu dengan menggunakan metode spektrofotometri, disajikan dalam tabel berikut:

**Tabel 3.6 Data kualitatif kandungan pewarna Methanil Yellow pada berbagai produk jamu di kota Malang**

Kategori sampel	Kode sampel	Pewarna Methanil Yellow	
		Ulangan 1	Ulangan 2
Jamu tidak berlabel dagang	A1		
	B1		
	C1		
	D1		
	E1		
	F1		
	G1		
	H1		
Jamu berlabel dagang	A2		
	B2		
	C2		
	D2		
	E2		
	F2		
	G2		
	H2		

(Sumber: Data pribadi, 2018)

**Tabel 3.7 Data kuantitatif kandungan pemanis Sakarin pada berbagai produk jamu di kota Malang**

Kategori sampel	Kode sampel	Pemanis Sakarin		
		Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata
Jamu tidak berlabel dagang	A1			
	B1			
	C1			
	D1			
	E1			
	F1			
	G1			
	H1			
Jamu berlabel dagang	A2			
	B2			
	C2			
	D2			

**Tabel 3.7 Lanjutan**

E2
F2
G2
H2

(Sumber: Data pribadi, 2018)

### 3.7 Analisis Data

Teknik analisis data pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif diperoleh dari hasil pengujian pewarna Methanil Yellow. Sedangkan, data kuantitatif diperoleh dari hasil pengujian kadar pemanis Sakarin. Data kualitatif, dianalisis secara deskriptif sedangkan data kuantitatif diolah secara statistika. Pengolahan data dilakukan dengan terlebih dahulu menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas untuk mengetahui penyebarannya normal dan apakah varian datanya homogen. Kemudian diteruskan dengan uji T untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pewarna Methanil Yellow dan pemanis Sakarin pada jamu tidak berlabel dan jamu berlabel dagang. Data tersebut selanjutnya akan dianalisis secara deskriptif dan akan disesuaikan dengan ketentuan Permenkes RI Nomor 239/Men.Kes/Per/85 untuk menganalisis kesesuaian zat pewarna Methanil Yellow dan Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 4 Tahun 2014 untuk menganalisis kesesuaian pemanis Sakarin

#### 3.7.1 Uji Homogenitas

1. Masukkan data pada tabel dibawah ini

**Tabel 3.8 Uji Homogenitas**

Sampel	Db= (n-1)	$S_i^2$	$\text{Log } S_i^2$	(db) $\text{Log } S_i^2$
Jumlah				

(Sumber: Data pribadi, 2018)

Keterangan

$$S_i^2 = \frac{\sum X_i - \bar{X}}{n-1}$$

2. Hitung varian gabungan dari masing-masing sampel dengan rumus

$$S^2 = \frac{(n_i \cdot S_i^2) + \dots \dots \dots (n_k \cdot S_k^2)}{n_1 + \dots \dots \dots n_k}$$

$$X^2 \text{ hitung} = 2,3026 (B - \sum (n_i - 1) \log S_i^2)$$

3. Hitung  $\log S^{2s}$

4. Hitung nilai B

$$B = (\log S^2) \cdot \sum (n_i - 1)$$

5. Hitung nilai  $\chi^2$  hitung

$$c \text{ hitung} = \ln 10 [B - \sum (db) \log S_i^2]$$

6. Bandingkan  $\chi^2$  hitung dengan nilai  $\chi^2$  tabel, untuk  $\alpha = 0,05$  dan derajat

kebebasan (db) = k-1, maka diketahuilah  $\chi^2$  tabel

Jika  $\chi^2$  hitung  $\geq \chi^2$  tabel, tidak homogen

Jika  $\chi^2$  hitung  $\leq \chi^2$  tabel, homogen (Riduwan, 2016).

### 3.7.2 Uji Normalitas

1. Tentukan skor terbesar dan skor terkecil

2. Tentukan rentangan (R)

$$R = \text{skor terbesar} - \text{skor terkecil}$$

3. Tentukan banyaknya kelas (BK)

$$BK = 1 + 3,3 \log n$$

4. Tentukan panjangnya kelas (i)

$$i = \frac{R}{BK}$$

5. Tentukan rata-rata (mean)

$$\bar{x} = \frac{\sum fx}{n}$$

6. Tentukan simpangan baku (S)

$$S = \sqrt{\frac{n \cdot \sum fx_1^2 - (\sum fx_1)^2}{n \cdot (n-1)}}$$

7. Buat daftar frekuensi yang diharapkan dengan jalan:

- a. Tentukan batas kelas, yaitu angka skor kiri kelas interval pertama dikurangi 0,5 dan kemudian angka skor kanan kelas interval ditambah 0,5
- b. Tentukan nilai Z-score untuk batas kelas interval dengan rumus:
 
$$Z = \frac{\text{Batas kelas} - \bar{x}}{S}$$
- c. Tentukan luas 0-Z dari tabel kurva normal dari 0-Z dengan menggunakan angka-angka untuk batas kelas
- d. Tentukan luas tiap kelas interval dengan jalan mengurangi angka-angka 0-Z, yaitu angka baris pertama dikurangi baris kedua, angka baris kedua dikurangi baris ketiga dan begitu seterusnya. Kecuali untuk angka yang berbeda pada baris paling tengah ditambahkan dengan angka pada baris berikutnya
- e. Tentukan frekuensi yang diharapkan (fe) dengan cara mengalikan luas tiap interval dengan jumlah responden.

**Tabel 3.9 Uji Normalitas**

No	Batas Kelas	Z	Luas 0-Z	Luas Tiap Kelas Interval	fe	fo
						$\sum fo =$

Sumber: Data pribadi, 2018)

- f. Tentukan chi-kuadrat ( $\chi^2_{\text{hitung}}$ ) dengan rumus:

$$(\chi^2) = \sum_{i=1}^k \frac{(fo-fe)^2}{fe}$$

- g. Bandingkan ( $\gamma^2_{\text{hitung}}$ ) dengan ( $\gamma^2_{\text{tabel}}$ )

Kaidah keputusan:

Jika,  $\gamma^2_{\text{hitung}} \geq \gamma^2_{\text{tabel}}$ , maka distribusi data tidak normal

Jika  $\gamma^2_{\text{hitung}} \leq \gamma^2_{\text{tabel}}$ , maka distribusi data normal (Riduwan, 2016).

### 3.7.3 Uji T

Uji T yang digunakan adalah uji T dua sampel, yaitu uji yang tergolong sebagai uji perbandingan (uji komparatif). Tujuan dari uji ini yaitu untuk membandingkan (membedakan) kedua data (variabel) tersebut sama atau berbeda. Kegunaan uji komparatif adalah untuk menguji kemampuan generalisasi (signifikansi hasil penelitian yang berupa perbandingan keadaan variabel dari dua rata-rata sampel.

1. Buat Hipotesis  $H_0$  dan  $H_1$  dalam uraian kalimat
2. Buat Hipotesis  $H_0$  dan  $H_1$  model statistika

$$H_0 = \mu_1 \neq \mu_2$$

$$H_1 = \mu_1 = \mu_2$$

3. Hitung nilai rata-rata, standar deviasi dan varians

Rumus menghitung nilai rata-rata

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Rumus menghitung standar deviasi

$$S = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n-1}}$$

Rumus menghitung varians

Nilai standar deviasi dikuadratkan

$S^2 = \text{variens}$

4. Tentukan  $t_{hitung}$  dengan rumus

$$t_{hitung} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2} - 2 \cdot r \left( \frac{s_1}{\sqrt{n_1}} \right) \left( \frac{s_2}{\sqrt{n_2}} \right)}}$$

5. Tentukan nilai  $t_{tabel}$  dengan ketentuan:

taraf signifikansi  $\alpha = 0,05$ ,  $db = n_1 + n_2 - 2$

6. Tentukan kriteria pengujian

kriteria pengujian dua pihak

jika  $-t_{tabel} \leq t_{hitung} \leq +t_{tabel}$  maka  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak

7. Bandingkan antara  $t_{hitung}$  dengan  $t_{tabel}$

8. Tarik kesimpulan (Riduwan, 2016).